

B4



**PCT**  
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales Büro  
**INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)**

<b>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> :</b> <b>A61K 31/575, 31/70, 31/715</b>		<b>A1</b>	<b>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:</b> <b>WO 99/25361</b>  <b>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:</b> 27. Mai 1999 (27.05.99)
<b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/EP98/07057 <b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 5. November 1998 (05.11.98)  <b>(30) Prioritätsdaten:</b> 197 50 422.1      14. November 1997 (14.11.97)    DE  <b>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):</b> HENKEL KOMMANDITGESELLSCHAFT AUF AKTIEN [DE/DE]; Henkelstrasse 67, D-40589 Düsseldorf (DE).  <b>(72) Erfinder; und</b> <b>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US):</b> FABRY, Bernd [DE/DE]; Danziger Strasse 31, D-41352 Korschenbroich (DE).		<b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> AU, BG, BR, BY, CA, CN, CZ, HU, ID, IS, JP, KR, LT, LV, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, TR, UA, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  <b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht.  Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist: Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>	
<b>(54) Title:</b> USE OF SELECTED PHYTOSTENOL ESTERS FOR PRODUCING HYPOCHOLESTERAEMIC PREPARATIONS  <b>(54) Bezeichnung:</b> VERWENDUNG VON AUSGEWÄHLTEN PHYTOSTENOESTERN ZUR HERSTELLUNG VON HYPOCHOLESTERINÄMISCHEN MITTELN  <b>(57) Abstract</b>  <p>According to the invention, phytostenol esters with a conjugated fatty acid base are used for producing hypocholesteraeic preparations which are significantly more active than the comparable prior art. When encapsulated in gelatine, the preparations can also be administered orally in higher doses without any problems.</p>			
<b>(57) Zusammenfassung</b>  <p>Zur Herstellung von hypocholesterinämischen Mitteln wird die Verwendung von Phytostenolestern auf Basis konjugierter Fettsäuren vorgeschlagen, die gegenüber den vergleichbaren Produkten des Stands der Technik eine deutlich höhere Aktivität aufweisen. Durch Verkapselung in Gelatine lassen sich die Mittel problemlos auch oral in höheren Dosen verabreichen.</p>			

### LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monsco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland			TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CM	Kamerun			PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LJ	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

## **Verwendung von ausgewählten Phytostenolestern zur Herstellung von hypocholesterinämischen Mitteln**

---

### **Gebiet der Erfindung**

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Phytostenolestern, gegebenenfalls zusammen mit ausgewählten Potenzierungsmitteln zur Herstellung von Mitteln zur Verminderung des Cholesteringehaltes im Serum von Warmblütern.

### **Stand der Technik**

Unter hypocholesterinämischen Wirkstoffen werden Mittel verstanden, die zu einer Verminderung des Cholesteringehaltes im Serum von Warmblütern führen, ohne daß dadurch eine Hemmung oder Verringerung der Bildung von Cholesterin im Blut eintritt. Für diesen Zweck wurden bereits von Peterson et al. in *J.Nutrit.* **50**, **191** (1953) Phytostenole, also pflanzliche Stenole, und deren Ester mit Fettsäuren vorgeschlagen. In die gleiche Richtung weisen auch die Patentschriften **US 3,089,939**, **US 3,203,862** sowie die deutsche Offenlegungsschrift **DE-OS 2035069** (Procter & Gamble). Die Wirkstoffe werden üblicherweise Brat- oder Speiseölen zugesetzt und dann über die Nahrung aufgenommen, wobei die Einsatzmengen jedoch in der Regel gering sind und üblicherweise unter 0,5 Gew.-% liegen, um zu verhindern, daß die Speiseöle eintrüben oder die Stenole bei Zusatz von Wasser ausgefällt werden. Für den Einsatz im Nahrungsmittelbereich, in Kosmetika, pharmazeutischen Zubereitungen und im Agrarsektor werden in der europäischen Patentanmeldung **EP-A1 0289636** (Ashai) lagerstabile Emulsionen der Stenolester in Zucker- oder Polyglycerinestern vorgeschlagen. Die Einarbeitung von Sitostanolestern zur Verminderung des Blutcholesteringehaltes in Margarine, Butter, Mayonnaise, Salatsaucen und dergleichen wird in der Europäischen Patentschrift **EP-B1 0594612** (Raisio) vorgeschlagen.

Von Nachteil ist jedoch, daß die Phytostenolester den Nahrungsmitteln üblicherweise nur in geringen Mengen zugesetzt werden können, da ansonsten die Gefahr besteht, daß sie den Geschmack und/oder die Konsistenz der Mittel beeinträchtigen. Zur nachhaltigen Beeinflussung des Cholesterin-

gehaltenes im Blut wäre jedoch die Aufnahme größerer Mengen Phytostenolester wünschenswert. Weiterhin verbesserungswürdig ist die Geschwindigkeit, mit der die Stoffe den Gehalt an Cholesterin im Serum vermindern. Die Aufgabe der Erfindung hat folglich darin bestanden, diesen Mängeln abzuhelpfen.

### **Beschreibung der Erfindung**

Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung von Estern von Phytostenolen mit Fettsäuren mit 6 bis 24 Kohlenstoffatomen und mindestens 2 konjugierten Doppelbindungen, gegebenenfalls zusammen mit Potenzierungsmitteln ausgewählt aus der Gruppe, die gebildet wird von Tocopherolen, Chitosanen, Phytostenolsulfaten und/oder (Desoxy)Ribonucleinsäuren, zur Herstellung von hypocholesterinämischen Mitteln.

Überraschenderweise wurde gefunden, daß Phytostenolester auf Basis konjugierter Fettsäuren bei der Senkung des Cholesteringehaltes im Blut eine deutlich höhere Aktivität zeigen als vergleichbare Phytostenolester, die sich von gesättigten Fettsäuren, einfach ungesättigten Fettsäuren oder mehrfach ungesättigten Fettsäuren mit zwei und mehr, nicht-konjugierten Doppelbindungen ableiten. Durch Kombination der erfindungsgemäß zu verwendenden Phytostenolester (Komponente a) mit Potenzierungsmitteln (Komponente b) aus der Gruppe der Chitosane, Phytostenolsulfate und/oder Desoxy- bzw. Ribonucleinsäuren, die selbst über keine oder nur sehr geringe hypocholesterinämischen Eigenschaften verfügen, kann die Abnahme des Cholesteringehaltes im Serum weiter beschleunigt werden. In Gelatine verkapselt lassen sich sowohl die Phytostenolester als auch die Wirkstoffgemische zudem problemlos oral einnehmen.

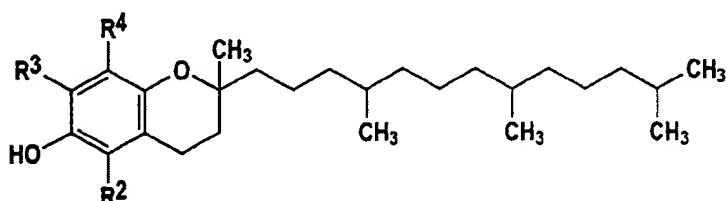
### **Phytostenolester**

Unter Phytostenolen (oder synonym Phytosterolen) sind pflanzliche Steroide zu verstehen, die nur am C-3 eine Hydroxylgruppe, sonst aber keine funktionellen Gruppen tragen. In der Regel besitzen die Phytostenole 27 bis 30 Kohlenstoffatome und eine Doppelbindung in 5/6, gegebenenfalls 7/8, 8/9 oder anderen Positionen. Durch Härtung können aus den ungesättigten Stenolen die entsprechenden gesättigten Stanole erhalten werden, die von der Erfindung mitumfaßt werden. Durch Veresterung der Stenole bzw. Stanole mit ungesättigten Fettsäuren mit konjugierten Doppelbindungen, vorzugsweise konjugierter Linolsäure (CLA) oder konjugierten Fischfettsäuren, werden die Stoffe erhalten, die die Komponente (a) bilden. Die Phytostenolkomponente der Ester kann sich dabei von Ergostenolen, Campestenolen, Stigmastenolen, Brassicastenolen sowie vorzugsweise Sitostenolen bzw. Sitostanolen und insbesondere  $\beta$ -Sitostenolen bzw.  $\beta$ -Sitostanolen ableiten. Die Herstellung kann in an sich bekannter

Weise erfolgen, beispielsweise durch direkte Veresterung der Stenole mit den Fettsäuren und anschließender Härtung der Ester, durch direkte Veresterung der Stanole mit den Fettsäuren oder vorzugsweise durch Umesterung und gegebenenfalls Härtung der Stenole bzw. Stanole mit den entsprechenden Konjungenfettsäuremethylestern. Ein allgemeines Herstellverfahren durch Umesterung der Stenole/Stanole mit Fettsäureniedrigalkylestern oder Triglyceriden in Gegenwart geeigneter Katalysatoren, wie z.B. Natriummethylat oder speziell auch Enzymen wird in der EP-A2 0195311 (Yoshikawa) beschrieben. Im Sinne der Erfindung kann die Fettsäurekomponente der Phytostenolester auch in untergeordneten Mengen (kleiner 50 Mol-%) gesättigte, einfach ungesättigte oder mehrfach ungesättigte, nicht-konjugierte Anteile enthalten. Demzufolge kann beispielsweise zur Herstellung der Ester anstelle reiner konjugierter Linolsäure auch eine technische Mischung mit einem hohen Anteil an konjugierter Linolsäure eingesetzt werden, wie sie beispielsweise unter der Bezeichnung Selin® CLA (Grünau) im Handel erhältlich ist. In gleicher Weise können zur Herstellung der Phytostenolester auch entsprechende Fettsäuremethylester oder Triglyceride (z.B. Selin® CLA-TG) mit hohem Konjungehalt umgeestert werden.

### Tocopherole

Unter Tocopherolen, die als Potenzierungsmittel für die Phytostenolester in Frage kommen, werden in 2-Stellung mit 4,8,12-Trimethyltridecyl-Resten substituierte Chroman-6-ole (3,4-Dihydro-2-H-1-benzopyran-6-ole) verstanden, die der Formel (II) folgen,



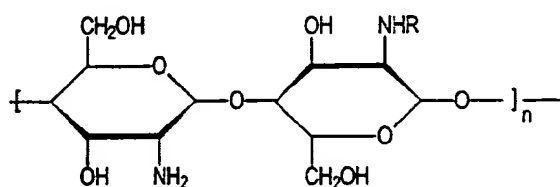
(II)

in der R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> und R<sup>4</sup> unabhängig voneinander für Wasserstoff oder eine Methylgruppe stehen. Tocopherole zählen zu den Biochinonen, also polyprenylierten 1,4-Benzo- bzw. Naphthochinonen, deren Prenylketten mehr oder weniger stark gesättigt sind. Typische Beispiele für Tocopherole, die im Sinne der Erfindung als Komponente (b1) in Betracht kommen, sind Ubichinone, Bovichinone, K-Vitamine und/oder Menachinone (2-Methyl-1,4-Naphthochinone). Man unterscheidet bei den Tocopherolen weiterhin  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ - und  $\epsilon$ -Tocopherole, wobei letztere noch über die ursprüngliche ungesättigte Prenylseitenkette verfügen, sowie  $\alpha$ -Tocopherolchinon und -hydrochinon, bei denen das Pyran-Ringsystem geöffnet ist. Vorzugsweise wird als Komponente (b)  $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E) der Formel (II) eingesetzt, bei der R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> und R<sup>4</sup> für Methylgruppen stehen, oder Ester des  $\alpha$ -Tocopherols mit Carbon-

säuren mit 2 bis 22 Kohlenstoffatomen, wie beispielsweise  $\alpha$ -Tocopherolacetat oder  $\alpha$ -Tocopherolpalmitat.

### Chitosane

Chitosane, die ebenfalls als Potenzierungsmittel (b2) für die Phytostenolester in Frage kommen, stellen Biopolymere dar und werden zur Gruppe der Hydrokolloide gezählt. Chemisch betrachtet handelt es sich um partiell deacetylierte Chitine unterschiedlichen Molekulargewichtes, die den folgenden - idealisierten - Monomerbaustein (III) enthalten:



(III)

Im Gegensatz zu den meisten Hydrokolloiden, die im Bereich biologischer pH-Werte negativ geladen sind, stellen Chitosane unter diesen Bedingungen kationische Biopolymere dar. Die positiv geladenen Chitosane können mit entgegengesetzt geladenen Oberflächen in Wechselwirkung treten und werden daher in kosmetischen Haar- und Körperpflegemitteln sowie pharmazeutischen Zubereitungen eingesetzt (vgl. **Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry**, 5th Ed., Vol. A6, Weinheim, Verlag Chemie, 1986, S. 231-332). Übersichten zu diesem Thema sind auch beispielsweise von B.Gesslein et al. in **HAPPI** 27, 57 (1990), O.Skaugrud in **Drug Cosm.Ind.** 148, 24 (1991) und E.Onsoyen et al. in **Seifen-Öle-Fette-Wachse** 117, 633 (1991) erschienen. Zur Herstellung der Chitosane geht man von Chitin, vorzugsweise den Schalenresten von Krustentieren aus, die als billige Rohstoffe in großen Mengen zur Verfügung stehen. Das Chitin wird dabei in einem Verfahren das erstmals von Hackmann et al. beschrieben worden ist, üblicherweise zunächst durch Zusatz von Basen deproteiniert, durch Zugabe von Mineralsäuren demineralisiert und schließlich durch Zugabe von starken Basen deacetyliert, wobei die Molekulargewichte über ein breites Spektrum verteilt sein können. Vorzugsweise werden entweder niedermolekulare Chitosane mit einem durchschnittlichen Molekulargewicht von etwa 50.000 bis etwa 250.000 Dalton oder hochmolekulare Chitosane mit einem durchschnittlichen Molekulargewicht von etwa 500.000 bis etwa 2.000.000 eingesetzt. Entsprechende Verfahren sind beispielsweise aus **Makromol.Chem.** 177, 3589 (1976) oder der französischen Patentanmeldung **FR-A 2701266** bekannt. Besonders bevorzugt werden solche Typen eingesetzt, wie sie in den deutschen Patentanmeldungen **DE-A1 4442987** und **DE-A1 19537001** (Henkel) offenbart werden und die ein durchschnittliches Molekulargewicht von 800.000 bis 1.200.000 Dalton, eine Viskosität nach Brookfield (1 Gew.-%ig in Glycolsäure) unterhalb von 5000 mPas, einen Deacetylierungsgrad im Bereich von 80 bis 88 % und einem Aschegehalt von weniger als 0,3 Gew.-% aufweisen. Neben den Chitosanen als

typischen kationischen Biopolymeren kommen im Sinne der Erfindung auch anionisch bzw. nichtionisch derivatisierte Chitosane, wie z.B. Carboxylierungs-, Succinylierungs- oder Alkoxylierungsprodukte in Frage, wie sie beispielsweise in der deutschen Patentschrift **DE-C2 3713099** (L'Oréal) sowie der deutschen Patentanmeldung **DE-A1 19604180** (Henkel) beschrieben werden.

#### Phytostenolsulfate

Phytostenolsulfate, die ebenfalls als Potenzierungsmittel (b3) für die Phytostenolester in Frage kommen, stellen bekannte Stoffe dar, die beispielsweise durch Sulfatierung von Phytostenolen mit einem Komplex aus Schwefeltrioxid und Pyridin in Benzol hergestellt werden können [vgl. **J.Am.Chem.Soc. 63, 1259 (1941)**]. Typische Beispiele sind die Sulfate von Ergostenolen, Campestenolen, Stigmastenolen und Sitostenolen. Die Phytostenolsulfate können als Alkali- und/oder Erdalkalimetallsalze, als Ammonium-, Alkylammonium-, Alkanolammonium- und/oder Glucammoniumsalze vorliegen. In der Regel werden sie in Form ihrer Natriumsalze eingesetzt.

#### (Desoxy)Ribonucleinsäuren

Unter (Desoxy)Ribonucleinsäuren (DNA bzw. RNA), die als letzte Gruppe von Potenzierungsmitteln (b4) für die Phytostenolester in Frage kommen, werden hochmolekulare, fadenförmige Polynucleotide verstanden, die sich von 2'-Desoxy- $\beta$ -D-ribonucleosiden bzw. D-Ribonucleosiden ableiten, die ihrerseits wieder von äquivalenten Mengen einer Nucleobase und der Pentose 2-Desoxy-D-ribo-furanose bzw. D-Ribofuranose aufgebaut werden. Als Nucleobasen können die DNA bzw. RNA die Purinderivate Adenin und Guanin sowie die Pyrimidine Cytosin und Thymin bzw. Uracil enthalten. In den Nucleinsäuren sind die Nucleobasen N-glykosidisch mit Kohlenstoffatom 1 der Ribose, wodurch im Einzelfall Adenosine, Guanosine, Cytidine und Thimidine entstehen. In den Säuren verknüpft eine Phosphatgruppe die 5'-Hydroxygruppe der Nucleoside mit der 3'-OH-Gruppe der jeweils folgenden durch eine Phosphodiesterbrücke unter Ausbildung von Einzelstrang-DNA bzw. -RNA. Wegen des großen Verhältnisses von Länge zu Durchmesser neigen DNA- bzw. RNA-Moleküle schon bei mechanischer Beanspruchung, etwa bei der Extraktion, zu Strangbruch. Aus diesem Grunde kann das Molekulargewicht der Nucleinsäuren  $10^3$  bis  $10^9$  Dalton reichen. Im Sinne der Erfindung werden konzentrierte DNA bzw. RNA-Lösungen eingesetzt, die sich durch ein flüssigkristallines Verhalten auszeichnen. Vorzugsweise werden Desoxy- bzw. Ribonucleinsäuren eingesetzt, die aus marinen Quellen beispielsweise durch Extraktion von Fischsperma erhalten werden und die ein Molekulargewicht im Bereich von 40.000 bis 1.000.000 Dalton aufweisen.

**Gewerbliche Anwendbarkeit**

Die Wirkstoffmischungen der Erfindung können die Phytostenolester (a) und die Potenzierungsmittel (b) im Gewichtsverhältnis 99 : 1 bis 1 : 99, vorzugsweise 90 : 10 bis 10 : 90, insbesondere 70 : 25 bis 25 : 75 und besonders bevorzugt 60 : 40 bis 40 : 60 enthalten, wobei allein sicherzustellen ist, daß mit der erfindungsgemäßen Verwendung eine zur Senkung des Cholesteringehaltes im Blut ausreichende Menge der Komponente (a) aufgenommen wird. In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung werden die Phytostenolester – alleine oder zusammen mit den Potenzierungsmitteln - in an sich bekannter Weise in Gelatine verkapselt, wobei man die Komponenten (a) und gegebenenfalls (b) jeweils in Mengen von 0,1 bis 50, vorzugsweise 1 bis 30, insbesondere 5 bis 25 und besonders bevorzugt 10 bis 15 Gew.-% - bezogen auf das Gewicht der Gelatinekapseln - einsetzt. Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft die Erkenntnis, daß die Verkapselung der Phytostenolester in Gelatine eine vorteilhafte Ausführungsform für die orale Aufnahme der Wirkstoffe darstellt.

Eine weitere Verabreichungsform der Phytostenolester sind Zäpfchen, die rektal oder vaginal eingeführt werden können, und als Suppositoriengrundmasse ebenfalls Gelatine, gegebenenfalls in Kombination mit Glycerin, oder aber synthetische Fette bzw. Wachse, Polyethylenglycole oder natürliche Bestandteile wie z.B. Kakaobutter enthalten können. Daneben ist es möglich, die Phytostenolester in üblichen Nahrungsmitteln zu lösen bzw. zu dispergieren, als da beispielsweise sind : Salatöle, Dressings, Mayonnaisen, Margarinen, Butter, Fritierfette, Kakaoprodukte, Wurst und dergleichen.



## Beispiele

### Beispiele 1 bis 5, Vergleichsbeispiele V1 bis V3

Es wurden Gelatinekapseln (Gewicht ca. 1,5 g) mit einem Gehalt von 5 Gew.-% verschiedener  $\beta$ -Sitostenolester und gegebenenfalls Vitamin E sowie 0,5 Gew.-% radioaktiv markiertem Cholesterin hergestellt. Zur Untersuchung der hypocholesterinämischen Wirkung ließ man männliche Ratten (Einzelgewicht ca. 200 g) über Nacht fasten. Am folgenden Tag wurde den Versuchstieren jeweils eine zerkleinerte Gelatinekapsel mit etwas kochsalzhaltigem Wasser über eine Magensonde eingeführt. Nach 3, 6, 12, 24 und 48 h wurde den Tieren Blut abgenommen und der Gehalt an radioaktivem Cholesterin bestimmt. Die Ergebnisse, die den Mittelwert der Messungen von 10 Versuchstieren darstellen, sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Die Angaben zur Abnahme der Radioaktivität verstehen sich jeweils in Bezug auf eine Blindgruppe von Versuchstieren, denen lediglich Gelatinekapseln mit einem Gehalt von 20 Gew.-% Vitamin E und einer entsprechenden Menge radioaktiv markiertem Cholesterin verabreicht worden war. Die Mischungen 1 bis 5 sind erfindungsgemäß, die Mischungen V1 bis V3 dienen dem Vergleich.

**Tabelle 1**

Hypocholesterinämische Wirkung (Mengenangaben als Gew.-% bezogen auf Gelatinekapsel)

Zusammensetzung/Aktivität	1	2	3	4	5	V1	V2	V3
Konjuenfettsäure- $\beta$ -sitostenolester*	5	-	-	-	-	-	-	-
konj. C <sub>12</sub> -C <sub>24</sub> -Fischfettsäure- $\beta$ -sitostenolester	-	5	-	-	-	-	-	-
Konjuenfettsäure- $\beta$ -sitostanolester*	-	-	5	-	-	-	-	-
konj. C <sub>12</sub> -C <sub>24</sub> -Fischfettsäure- $\beta$ -sitostenolester	-	-	-	5	5	-	-	-
Laurinsäure- $\beta$ -sitostanolester	-	-	-	-	-	-	-	-
Ölsäure- $\beta$ -sitostanolester	-	-	-	-	-	5	-	-
Linolsäure- $\beta$ -sitostanolester	-	-	-	-	-	-	5	-
Vitamin E	-	-	-	-	5	-	-	5
<b>Radioaktivität [%-rel]</b>								
- nach 3 h	95	95	95	95	95	95	95	95
- nach 6 h	80	79	78	78	75	84	82	83
- nach 12 h	72	70	68	67	61	76	74	73
- nach 24 h	45	45	43	43	39	51	48	47
- nach 48 h	21	20	18	17	15	30	26	25

\*) Fettsäurebasis: Selin® CLA (Grünau/Illertissen)

**Patentansprüche**

---

1. Verwendung von Estern von Phytostenolen mit Fettsäuren mit 6 bis 24 Kohlenstoffatomen und mindestens 2 konjugierten Doppelbindungen zur Herstellung von hypocholesterinämischen Mitteln
2. Verwendung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß man Ester von  $\beta$ -Sitostenol oder  $\beta$ -Sitostanol einsetzt.
3. Verwendung nach den Ansprüchen 1 und 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß man Ester von  $\beta$ -Sitostenol bzw.  $\beta$ -Sitostanol mit konjugierter Linolsäure einsetzt.
4. Verwendung nach den Ansprüchen 1 und 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß man Ester von  $\beta$ -Sitostenol bzw.  $\beta$ -Sitostanol mit konjugierter Fischfettsäure einsetzt.
5. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die Phytostenolester zusammen mit Potenzierungsmitteln einsetzt, die ausgewählt sind aus der Gruppe, die gebildet wird von Tocopherolen, Chitosanen, Phytostenolestern und (Desoxy)-Ribonucleinsäuren sowie deren Gemischen.
6. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 5, **dadurch gekennzeichnet**, daß man als Potenzierungsmittel Vitamin E einsetzt.
7. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 6, **dadurch gekennzeichnet**, daß man als Potenzierungsmittel Chitosane mit einem durchschnittlichen Molekulargewicht im Bereich von 50.000 bis 250.000 bzw. 500.000 bis 2.000.000 Dalton einsetzt.
8. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 7, **dadurch gekennzeichnet**, daß man als Potenzierungsmittel marine Desoxyribonucleinsäuren einsetzt, die ein Molekulargewicht im Bereich von 40.000 bis 1.000.000 Dalton aufweisen.
9. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 8, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die Komponenten (a) und gegebenenfalls (b) in Gelatine verkapselt.
10. Verwendung nach Anspruch 9, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die Phytostenolester in Mengen von 0,1 bis 50 Gew.-% - bezogen auf das Gewicht der Gelatine kapseln - einsetzt.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 98/07057

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 A61K31/575 A61K31/70 A61K31/715

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K A23L A23D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	WO 98 23277 A (HENKEL KGAA) 4 June 1998 see page 2, paragraph 5 - page 3, paragraph 1; claims 1-10 see page 5, paragraph 3-4	1, 2, 5-10
A	DE 24 08 067 A (PROCTER & GAMBLE) 5 September 1974 see page 1 - page 2, paragraph 1 see page 3, paragraph 2; claims 1-4 see page 5, paragraph 4 see page 7, paragraph 2 - page 8	1-4, 6, 9, 10
A	US 5 244 887 A (STRAUB CARL D) 14 September 1993 see column 6, line 10-12; claims 1-5 see column 6, line 23-41	1, 6
	-/--	



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 April 1999

Date of mailing of the international search report

04/05/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040. Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Kanbier, D

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 98/07057

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 096, no. 004, 30 April 1996 &amp; JP 07 330611 A (YAKULT HONSHA CO LTD), 19 December 1995 see abstract</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1,2
A	<p>WO 92 19640 A (RAISION MARGARIINI OY) 12 November 1992 see page 5, paragraph 2; examples 1-4 see page 6, line 30-34 see page 9, paragraph 3; claims 1,2,4,6,7</p> <p style="text-align: center;">---</p>	1,2
A	<p>FR 2 228 493 A (FERRER LABOR) 6 December 1974 see page 1, line 21-25; claims 1,2</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1,2

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 98/07057

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9823277 A	04-06-1998	DE 19700796 A AU 5322998 A AU 5553198 A WO 9823275 A	04-06-1998 22-06-1998 22-06-1998 04-06-1998
DE 2408067 A	05-09-1974	US 3865939 A BE 811452 A CA 1024814 A FR 2218838 A GB 1413102 A JP 1135221 C JP 50040605 A JP 57026732 B NL 7402426 A,C	11-02-1975 22-08-1974 24-01-1978 20-09-1974 05-11-1975 14-02-1983 14-04-1975 07-06-1982 27-08-1974
US 5244887 A	14-09-1993	NONE	
WO 9219640 A	12-11-1992	CA 2102112 A AU 664827 B DE 69127207 D DE 69127207 T DK 594612 T EP 0594612 A FI 934869 A,B, FI 964951 A HK 1001951 A JP 6506909 T NO 933966 A PL 166991 B RU 2095367 C US 5502045 A	04-11-1992 07-12-1992 11-09-1997 22-01-1998 01-09-1997 04-05-1994 03-11-1993 11-12-1996 24-07-1998 04-08-1994 02-11-1993 31-07-1995 10-11-1997 26-03-1996
FR 2228493 A	06-12-1974	AT 336203 B AU 6874774 A BE 814741 A CH 589673 A DE 2422317 A GB 1473574 A JP 50129543 A JP 53035071 B NL 7406089 A,B ZA 7402921 A	25-04-1977 13-11-1975 02-09-1974 15-07-1977 21-11-1974 18-05-1977 13-10-1975 25-09-1978 12-11-1974 28-05-1975

PCT/EP 98/07057

Kanbier, D

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 096, no. 004, 30. April 1996 & JP 07 330611 A (YAKULT HONSHA CO LTD), 19. Dezember 1995 siehe Zusammenfassung ---	1,2
A	WO 92 19640 A (RAISION MARGARIINI OY) 12. November 1992 siehe Seite 5, Absatz 2; Beispiele 1-4 siehe Seite 6, Zeile 30-34 siehe Seite 9, Absatz 3; Ansprüche 1,2,4,6,7 ---	1,2
A	FR 2 228 493 A (FERRER LABOR) 6. Dezember 1974 siehe Seite 1, Zeile 21-25; Ansprüche 1,2 -----	1,2

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Intern. nationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/07057

In: Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9823277	A	04-06-1998	DE	19700796 A	04-06-1998
			AU	5322998 A	22-06-1998
			AU	5553198 A	22-06-1998
			WO	9823275 A	04-06-1998
DE 2408067	A	05-09-1974	US	3865939 A	11-02-1975
			BE	811452 A	22-08-1974
			CA	1024814 A	24-01-1978
			FR	2218838 A	20-09-1974
			GB	1413102 A	05-11-1975
			JP	1135221 C	14-02-1983
			JP	50040605 A	14-04-1975
			JP	57026732 B	07-06-1982
			NL	7402426 A,C	27-08-1974
US 5244887	A	14-09-1993	KEINE		
WO 9219640	A	12-11-1992	CA	2102112 A	04-11-1992
			AU	664827 B	07-12-1992
			DE	69127207 D	11-09-1997
			DE	69127207 T	22-01-1998
			DK	594612 T	01-09-1997
			EP	0594612 A	04-05-1994
			FI	934869 A,B.	03-11-1993
			FI	964951 A	11-12-1996
			HK	1001951 A	24-07-1998
			JP	6506909 T	04-08-1994
			NO	933966 A	02-11-1993
			PL	166991 B	31-07-1995
			RU	2095367 C	10-11-1997
			US	5502045 A	26-03-1996
FR 2228493	A	06-12-1974	AT	336203 B	25-04-1977
			AU	6874774 A	13-11-1975
			BE	814741 A	02-09-1974
			CH	589673 A	15-07-1977
			DE	2422317 A	21-11-1974
			GB	1473574 A	18-05-1977
			JP	50129543 A	13-10-1975
			JP	53035071 B	25-09-1978
			NL	7406089 A,B	12-11-1974
			ZA	7402921 A	28-05-1975